



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 102 41 407.6

Anmeldetag: 06. September 2002

Anmelder/Inhaber: elbion AG, Radebeul/DE

Bezeichnung: Behandlung nicht allergischer Rhinitis durch selektive Phosphodiesterase 4-Hemmstoffe

IPC: A 61 K 31/4045

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 30. Juli 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Sieck

WEICKMANN & WEICKMANN

Patentanwälte
European Patent Attorneys · European Trademark Attorneys

DIPL.-ING. **H. WEICKMANN** (bis 31.1.01)
DIPL.-ING. **F. A. WEICKMANN**
DIPL.-CHEM. **B. HUBER**
DR.-ING. **H. LISKA**
DIPL.-PHYS. DR. **J. PRECHTEL**
DIPL.-CHEM. DR. **B. BOHM**
DIPL.-CHEM. DR. **W. WEISS**
DIPL.-PHYS. DR. **J. TIESMEYER**
DIPL.-PHYS. DR. **M. HERZOG**
DIPL.-PHYS. **B. RUTTENSPERGER**
DIPL.-PHYS. DR.-ING. **V. JORDAN**
DIPL.-CHEM. DR. **M. DEY**
DIPL.-FORSTW. DR. **J. LACHNIT**

Unser Zeichen:
28455P DE/WWDRpu

Anmelder:
elbion AG
Meißner Straße 191

01445 Radebeul

**Behandlung nicht allergischer Rhinitis durch selektive Phosphodi-
esterase 4-Hemmstoffe**

Behandlung nicht allergischer Rhinitis durch selektive Phosphodiesterase 4-Hemmstoffe

5

Beschreibung

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Hydroxyindolyl-glyoxylsäureamiden als Hemmstoffe der Phosphodiesterase 4 zur Behandlung von nicht allergischer Rhinitis.

10

Als nicht allergische Rhinitis werden eine ganze Reihe von Erkrankungen bezeichnet, bei denen die Symptome einer chronischen Rhinitis beteiligt sind, die jedoch keinen allergischen Ursprung haben. Als allgemeine Symptome der nicht allergischen Rhinitis treten nasale Blockade/Verstopfung und Nasenfluss auf ohne die Symptome Niesen und Bindehautreizungen. Häufiges Niesen und Reizungen der Bindehaut sind Symptome, die vorwiegend bei der allergischen Rhinitis in Erscheinung treten. Patienten mit nicht allergischer Rhinitis haben negative oder klinisch irrelevante allergische Hauttests und einen normalen Serum IgE-Spiegel.

20

Obwohl die Häufigkeit der nicht allergischen Rhinitis schwer zu bestimmen ist, veröffentlichte die Nationale Projektgruppe zur Klassifikation der Rhinitis in den USA (National Rhinitis Classification Task Force), dass von allen Patienten, die an chronischer Rhinitis leiden, 23 % nicht allergische, 34 % Mischformen und 43 % allergische Rhinitis besitzen.

25

Unter dauernd anhaltende Leiden von unbekannter Herkunft zählt man die vasomotorische Rhinitis, eine chronische idiopathische Krankheit, die nicht infektiös ist, keine erhöhten Serum IgE-Spiegel zeigt und nicht mit einer Entzündung und/oder Eosinophilie einhergeht. Sie ist die häufigste Form der nicht allergischen Rhinitis mit den Hauptsymptomen Verstopfung und Nasenfluss. Die Pathophysiologie dieser Erkrankung ist unklar, die auftretende nasale Hyperreaktivität ist getriggert durch nicht

30

immunologische Stimuli, wie kalte Luft, Zigarettenrauch, chemische Reizstoffe, starken Geruch oder körperliche Anstrengung und Stress (Zeiger, R.S., Allergic and Nonallergic Rhinitis. Classification and Pathogenesis: Part II. Nonallergic Rhinitis, American Journal of Rhinology 5 (1989), 3:113-139).

Die nicht allergische Rhinitis mit Eosinophilesyndrom (NARES) ist gekennzeichnet durch anfallartiges Niesen, wässrigen Nasenfluss, Nasenjucken und Eosinophilie in den nasalen Abstrichen ohne Anzeichen 10 einer Allergie. Die bei NARES auftretenden Symptome sind intensiver als bei vasomotorischer Rhinitis oder allergischer Rhinitis. NARES ist eine isolierte Krankheit, die als Begleiterscheinung zu Asthma, Aspirin-Überempfindlichkeit oder bei nasalen Polypen auftritt.

15 Die Ätiologie von einigen anderen Rhinitis-Syndromen ist etwas klarer. Die chronische Sinusitis ist eine meist nicht bakteriell verursachte chronische Schleimhautentzündung. Die medikamentöse Rhinitis wird durch eine Reihe von Substanzen, wie Betablocker, ACE-Hemmer, orale Kontrazeptiva oder Prazosin, hervorgerufen. Sie ist eher durch ein interstitielles Ödem als 20 durch Vasodilatation gekennzeichnet. Nasenpolypen treten gehäuft bei der chronischen nicht allergischen Rhinitis auf und verstärken ihre Symptome (Zeiger (1989), supra).

Neben den genannten Rhinitis-Syndromen tritt die nicht allergische Rhinitis 25 als Symptom von Infektionen der Atemwege einschließlich der Nebenhöhlen sehr häufig auf. Die Infektionen sind dabei durch Viren, Bakterien, Pilze oder durch Kombinationen der genannten Keime bedingt. Protozoen oder höherzellige Parasiten sind seltener Ursache von Rhinitiden. Die Infektion, d.h. die Besiedelung mit den genannten Keimen, kann dabei, 30 wie z.B. bei einer Infektion mit Rhinoviren, lokal auf die Schleimhäute der oberen Atemwege begrenzt sein oder wie bei der Influenza-Virus-Infektion neben den oberen Atemwegen den ganzen Körper betreffen. Allen diesen

Infektionen ist gemein, dass als Symptom eine entzündliche Veränderung der Nasenschleimhaut zu beobachten ist. Diese kann eher exsudativen Charakter haben (laufende Nase) oder eher ödematösen Charakter (zugeschwollene Nase). Die Mehrzahl dieser infektiösen Erkrankungen verläuft akut, jedoch sind chronische Verläufe bekannt. Diese chronischen Rhinitiden führen oft, wie auch andere chronische (nicht infektiöse) Rhinitiden, zu Zubildungen der Nasenschleimhaut, den sogenannten nasalen Polypen.

Die allergische Rhinitis, auch als Heuschnupfen bezeichnet, unterscheidet sich deutlich von den Formen der nicht allergischen Rhinitis. Der allergischen Rhinitis liegt wie bei allen allergischen Erkrankungen eine chronische, stets fortschreitende komplexe zelluläre Entzündungsreaktion zugrunde, die durch eine gehäufte Ansammlung von eosinophilen Granulozyten und erhöhtem Serum-IgE Spiegel charakterisiert ist. Ausgelöst wird die allergische Rhinitis durch eine Überempfindlichkeit gegenüber Allergenen, wie Pollen, Hausstaub, Milben, Tierhaare oder chemische Stoffe.

Hauptsymptome der allergischen Rhinitis sind vermehrter Nasenfluss, nasale Verstopfung durch Ödembildung, häufiges Niesen und Reizungen der Bindehaut. Wichtigstes therapeutisches Ziel ist neben der Behandlung der Symptome die Unterdrückung der durch Mediatoren gesteuerten Entzündung der Nasenschleimhaut. Trotz intensiver Forschungsaktivitäten ist die Pathogenese der allergischen Erkrankungen noch nicht vollständig aufgeklärt.

Auch wenn heute eine große Anzahl von Medikamenten für die Therapie verschiedener Formen von Rhinitis eingesetzt werden kann, ist die Behandlung in vielen Fällen nicht zufriedenstellend. Unzureichend ist insbesondere die Behandlung bei den Formen der nicht allergischen Rhinitis,

die oft trotz Anwendung von Arzneimitteln einen chronischen Krankheitsverlauf aufweisen.

Die aus heutiger Sicht wirksamsten Therapeutika der nicht allergischen und der allergischen Rhinitis sind topisch oder oral verabreichte Kortikosteroide (Steroide). Steroide sind bei längerer Anwendung oft mit schwerwiegenden Nebenwirkungen (wie Osteoporose, Wachstumsretardation) behaftet (Forth, W., Henschler, D., Rummel, W., Starke, K., Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, Bibliographisches Institut & F.A. Brockhaus AG, Mannheim (1993), 562-563). Demzufolge werden sie sowohl von den Patienten als auch von den behandelnden Ärzten oft erst in der fortgeschrittenen Phase der Erkrankung eingesetzt. Damit bestehen die Gefahren, dass 1.) sich aus einer relativ harmlosen Rhinitis (Rhinokonjunktivitis) ein Asthma bronchiale entwickelt (Etagenwechsel) und 2.) die der Erkrankung zugrunde liegende Entzündung voranschreitet. Demzufolge wird die Gewebestruktur der unteren Atemwege umgebaut. Anstelle der reversiblen Veränderungen treten irreversible morphologische Umbauprozesse (remodelling) auf, die zur Einengung der Atemwege führen. Weitere Arzneimittel, die bei der Symptombehandlung der nicht allergischen Rhinitis eingesetzt werden, sind topische Antihistaminika, Anticholinergika oder Vasokonstriktoren, die den Nasenfluss hemmen, jedoch keine Wirkung auf die Entzündung des Gewebes besitzen und bei nasaler Obstruktion keine Erleichterung verschaffen. Einige dieser Mittel dürfen nur kurzzeitig angewendet werden, da bei längerem Gebrauch das Gewebe zerstört wird (Vasokonstriktoren z.B. alpha-adrenerge Substanzen (Bachert, C., Ganzer, U., Die nasale Hyperreaktivität. Die allergische Rhinitis und ihre Differentialdiagnosen - Konsensusbericht zur Pathophysiologie, Klassifikation, Diagnose und Therapie.; Nasal hyperreactivity. Allergic rhinitis and differential diagnoses - consensus report on pathophysiology, classification, diagnosis and therapy Laryngo-rhino-otologie (1997), 72(2): 65-76).

Es ist bekannt, dass selektive Hemmstoffe des PDE4-Isoenzyms zur Therapie der allergischen Rhinitis oder des allergischen Asthma bronchiale eingesetzt werden können. Diese Isoenzyme besitzen unterschiedliche Funktionen im Körper und sind in den einzelnen Zellarten unterschiedlich ausgeprägt (Beavo, J.A., Conti, M. and Heaslip, R.J., Multiple cyclic nucleotide phosphodiesterases. Mol. Pharmacol. 1994, 46:399-405; Hall IP., Isoenzyme selective phosphodiesterase inhibitors: potential clinical uses, Br. J. clin. Pharmacol. 1993, 35:1-7). Durch Hemmung der verschiedenen PDE-Isoenzymentypen kommt es zu einer Kumulation von cAMP bzw. cGMP in den Zellen, was therapeutisch genutzt werden kann (Torphy, T.J., Livi, G.P., Christensen, S.B., Novel Phosphodiesterase Inhibitors for the Therapy of Asthma, Drug News and Perspectives 1993, 6:203-214; Torphy, T.J., Phosphodiesterase isoenzymes: Molecular targets for novel antiasthmatic agents. Am J Respir Crit Care Med 1998; 157:351-370).

Das cyclische Adenosin-Monophosphat (cAMP) gehört zu den sogenannten intrazellulären Botenstoffen, deren intrazelluläre Konzentration durch die Phosphodiesterase (PDE)-Isoenzyme reguliert wird. Studien haben ergeben, dass selektive Hemmstoffe des PDE4-Isoenzym die intrazelluläre Konzentration von cAMP anheben und dadurch die proinflammatorische Aktivität einer Vielzahl von Zellen (z.B. eosinophile und neutrophile Granulozyten) hemmen. Selektive PDE4-Inhibitoren hemmen auch die Histamin-Freisetzung aus den Mastzellen oder stabilisieren die Endothelzellen der Blutgefäße in der Nasenschleimhaut, wodurch sich diese Wirkstoffe auch zur Behandlung der akuten Symptome der allergischen Rhinokonjunktivitis eignen (Barnette, M.S., Phosphodiesterase 4 (PDE4) inhibitors in asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Progress Drug Research (1999), 53, E. Jucker Ed., Birkhäuser Verlag, Basel (Switzerland); Dyke, H.J. and Montana, J.G., The therapeutic potential of PDE4 inhibitors, Exp Opin Invest Drugs, (1999), 8(9):1301-1325).

In DE 198 18 964 A1 werden Hydroxyindolyl-glyoxylsäureamide als PDE4-Inhibitoren beschrieben. Eine besonders bevorzugte Verbindung ist die Verbindung N-(3,5-Dichlorpyrid-4-yl)-[1-(4-fluorbenzyl)-5-hydroxy-indol-3-yl]-glyoxylsäureamid (AWD 12-281). Diese Hydroxyindolyl-glyoxyl-säureamide können zur Behandlung von entzündlichen Atemwegserkrankungen, wie allergische Rhinitis, eingesetzt werden. Weitere bevorzugte Verbindungen sind u.a. AWD 12-322 (N-(3,5-Dichlorpyrid-4-yl)-2-[5-hydroxy-1-(4-hydroxybenzyl)-1H-indol-3-yl]-glyoxylsäureamid) und AWD 12-298 (N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-[1-(2,6-difluorbenzyl)-5-hydroxy-indol-3-yl]-glyoxylsäureamid-semi-ethylacetat).

Völlig unerwartet und neuartig ist jedoch die Wirkung von PDE4-Hemmern bei den Formen der nicht allergischen Rhinitis. Die Wirkung der selektiven PDE4-Hemmstoffe bei diesen Erkrankungsformen der Nasenschleimhaut und des Bronchialepithels des oberen Respirationstraktes ist bisher noch nicht beschrieben worden. Unbekannt ist auch die Tatsache, dass PDE4-Hemmstoffe die toxische Wirkung von chemischen Substanzen, wie Essigsäure, auf Gewebe und besonders Schleimhäute verhindern kann. Tierexperimentell konnte an einem Symptom-Modell der vasomotorischen nicht allergischen Rhinitis die hervorragende Wirkung von PDE4-Hemmstoffen im Vergleich zu Standardtherapeutika der vasomotorischen Rhinitis gezeigt werden. Standardmedikamente für diese Erkrankungsform sind Steroide, wie z.B. Beclomethason oder Anticholinergika, wie Ipratropium bromid. Diese Substanzen zeigen an dem Rhinitismodell an Ratten eine dosisabhängige Wirkung gegen die durch Essigsäure ausgelöste vaskuläre Plasmapermeabilität der Nasenschleimhaut.

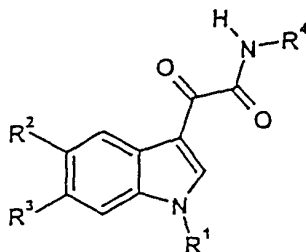
Die vasomotorische Rhinitis ist eine der am häufigsten auftretende Form der nicht allergischen Rhinitis. Exzessive Wasser-Rhinorrhoe wird in Patienten durch parasympathische Hyperreaktivität ausgelöst, indem parasympathische Nerven der Nasenschleimhaut stimuliert oder toxisch

gereizt werden. Ebenso können Stoffe, die die Blutgefäße stark erweitern, starken Nasenfluss und Ödembildung der Schleimhäute auslösen.

5 Tierexperimentell kann diese nicht allergische Form des verstärkten Nasenflusses durch Einwirken von Essigsäure auf die Nasenschleimhaut der Tiere ausgelöst werden. Das Auftreten einer verstärkten wässrigen Rhinitis nach Einwirkungen von Essigsäure wird durch zwei Ursachen ausgelöst. Durch eingeatmeten Essigsäuredampf oder die Superfusion der Nasenschleimhaut mit Essigsäure wird zum einen eine sofortige
10 Erweiterung der Blutgefäße der Nasenschleimhaut ausgelöst, die zu einer starken vaskulären Permeabilität führt. Da dieser Effekt durch das sensorische Nerventoxin Capsaicin hemmbar ist, wird die toxische Wirkung von Essigsäure auf die Irritation sensorischer Nervenfasern in der Nasenschleimhaut zurückgeführt (Stanek, J., Symanowicz, P.T., Olsen
15 J.E., Gianutsos, G., Morris J.B., Sensory-nerve-mediated nasal vasodilatory response to inspired acetaldehyde and acetic acid vapors, Inhalation toxicology (2001), 13(9):807-822). Zum anderen kann Essigsäure die parasympathische Aktivität der sensorischen Nervenfasern in der Nasenschleimhaut steigern. Chemische Stoffe mit starkem Geruch, wie
20 Essigsäure, regen nerval-reflektorisch auch die parasympathische Aktivität der nasalen Drüsen an, so dass es zu einer Überproduktion von wässrigem Sekret und damit vermehrtem Nasenfluss kommt. Die Einwirkung von Essigsäure auf Schleimhäute ist toxisch und führt zu einem Verlust von Adenosin-triphosphat (ATP) in den Gewebezellen. Der ATP- Verlust in den
25 Zellen der glatten Muskulatur und der Endothelzellen der Blutgefäße führt zur Erschlaffung der Zellen und damit dosisabhängig zur Vasodilatation (Kilgour, J.D., Simpson, S.A., Alexander, D.J., Reed, C.J., A rat nasal epithelial model for predicting upper respiratory tract toxicity: in vivo-in vitro correlations, Toxicology (2000), 145(1):39-49).

Ein Gegenstand der Erfindung betrifft die Verwendung von Hydroxyindol-3-yl-glyoxylsäureamiden der Formel (I)

5



10 worin

R¹ für -C₁-C₆-Alkyl, geradkettig oder verzweigt, gesättigt oder teilweise ungesättigt, steht gegebenenfalls ein- oder mehrfach substituiert mit mono-, bi- oder tricyclischen gesättigten oder ein- oder mehrfach ungesättigten Carbocyclen mit 3-14 Ringgliedern oder mono-, bi- oder tricyclischen gesättigten oder ein- oder mehrfach ungesättigten Heterocyclen mit 5-15 Ringgliedern und 1-6 Heteroatomen, die vorzugsweise N, O und S sind,

wobei die carbocyclischen und heterocyclischen Substituenten ihrerseits gegebenenfalls ein- oder mehrfach mit -OH, -SH, -NH₂, -NHC₁-C₆-Alkyl, -N(C₁-C₆-Alkyl)₂, -NHC₆-C₁₄Aryl, -N(C₆-C₁₄Aryl)₂, -N(C₁-C₆Alkyl)(C₆-C₁₄Aryl), -NO₂, -CN, -F, -Cl, -Br, -I, -O-C₁-C₆-Alkyl, -O-C₆-C₁₄-Aryl, -C₁-C₆-Alkyl, -C₆-C₁₄-Aryl oder/und -COOH substituiert sein können,

wobei jeder C₁-C₆-Alkylrest an den carbocyclischen und heterocyclischen Substituenten seinerseits ein- oder mehrfach mit -F, -Cl, -Br, -I, -OH oder/und C₆-C₁₄-Aryl substituiert sein kann, und wobei jeder C₆-C₁₄-Arylrest an den carbocyclischen und heterocyclischen Substituenten seinerseits ein- oder mehrfach mit -F, -Cl, -Br, -I, -OH oder/und C₁-C₆-Alkyl substituiert sein kann,

R², R³ für Wasserstoff oder -OH steht, wobei mindestens einer von beiden Substituenten -OH sein muss;

R⁴ für einen mono- oder polycyclischen aromatischen Carbocyclus mit 6-14 Ringgliedern oder einen mono- oder polycyclischen Heterocyclus mit 5-15 Ringgliedern steht, wobei die Heteroatome aus N, O und S ausgewählt sind,

5 gegebenfalls ein- oder mehrfach substituiert mit -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -SH, -NH₂, -NH(C₁-C₆-Alkyl), -N(C₁-C₆-Alkyl)₂, -NH(C₆-C₁₄ Aryl), -N(C₆-C₁₄Aryl)₂, -N(C₁-C₆-Alkyl) (C₆-C₁₄-Aryl), -NO₂, -CN, -O-C₁-C₆-Alkyl, -O-C₆-C₁₄-Aryl, -C₁-C₆-Alkyl, -C₆-C₁₄-Aryl oder/und -COOH,

10 wobei jeder C₁-C₆-Alkylrest seinerseits ein- oder mehrfach mit -F, -Cl, -Br, -I, -OH oder/und -C₆-C₁₄-Aryl substituiert sein kann und jeder C₆-C₁₄-Arylrest seinerseits ein- oder mehrfach mit -F, -Cl, -Br, -I, -OH oder/und C₁-C₆-Alkyl substituiert sein kann,

zur Behandlung von nicht allergischer Rhinitis.

15 Bevorzugt ist R¹ ein gegebenfalls substituierter C₁-C₃-Alkylrest, wie etwa n-Propyl, Isopropyl, Cyclopentylmethyl oder ein Benzylrest, der seinerseits ein- oder mehrfach durch Halogen, z.B. -F, -O-C₁-C₆ Alkyl oder -O-C₁-C₆-Haloalkyl, z.B. -OCH₃ oder OCF₃, oder/und -C₁-C₆-Alkyl oder C₁-C₆-Haloalkyl, z.B. -CH₃ oder -CF₃ substituiert sein kann.

20

Bevorzugt steht R⁴ für mono- oder bicyclische aromatische Carbocyclen oder Heterocyclen. Besonders bevorzugt steht R⁴ für Phenyl oder Pyridyl, insbesondere 4-Pyridyl.

25 Weiterhin ist bevorzugt, dass R⁴ ein- oder mehrfach substituiert ist mit -F, -Cl, -Br oder/und I. Am meisten bevorzugt ist die Verbindung AWD12-281.

Weitere bevorzugte Verbindungen sind u.a. AWD 12-322 (N-(3,5-Dichlorpyrid-4-yl)-2-[5-hydroxy-1-(4-hydroxybenzyl)-1H-indol-3-yl]-glyoxylsäureamid) und AWD 12-298 (N-(3,5-Dichlor-pyridin-4-yl)-[1-(2,6-difluorbenzyl)-5-hydroxy-indol-3-yl]-glyoxylsäureamid-semi-ethylacetat).

30

Neben den Verbindungen der Formel (I) können auch pharmakologisch verträgliche Salze davon eingesetzt werden. Die pharmakologisch verträglichen Salze können durch Neutralisation der Verbindungen mit geeigneten organischen oder anorganischen Basen bzw. Säuren erhalten werden.

Verbindungen der Formel (I) können zur therapeutischen Behandlung oder/und zur Prävention verschiedener Formen der nicht allergischen Rhinitis eingesetzt werden, z.B. vasomotorische Rhinitis, nicht allergische Rhinitis mit Eosinophiliesyndrom, chronische Sinusitis, medikamentöse Rhinitis und andere Formen der nicht allergischen Rhinitis.

Die Verabreichung der erfindungsgemäßen Verbindungen erfolgt vorzugsweise in Form von pharmazeutischen Zusammensetzungen, die neben dem Wirkstoff pharmakologisch verträgliche Träger-, Hilfs- oder Verdünnungsmittel enthalten.

Die Dosierung der Wirkstoffe kann je nach Verabreichungsweg, Alter, Gewicht des Patienten, Art und Schwere der zu behandelnden Erkrankungen und ähnlichen Faktoren variieren. Die tägliche Dosis kann als einmal zu verabreichende Einzeldosis oder unterteilt in zwei oder mehrere Tagesdosen gegeben werden und beträgt in der Regel 0,001 bis 100 mg, z.B. 0,01 bis 50 mg.

Als Applikationsformen kommen z.B. orale, parenterale, intravenöse, transdermale, topische, inhalative und intranasale Zubereitungen in Frage, wobei inhalative und intranasale Zubereitungen bevorzugt sind.

Zur Anwendung kommen die üblichen galenischen Zubereitungsformen, wie Tabletten, Dragees, Kapseln, dispergierbare Pulver, Granulate, wässrige Lösungen, wässrige oder ölige Suspensionen, Sirup, Säfte oder Tropfen. Besonders bevorzugt erfolgt die Verabreichung in Form von

zerstäubten flüssigen Zubereitungen, z.B. in Form von Aerosolen oder Sprays.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen oder diese Verbindungen
5 enthaltende pharmazeutische Präparate können auch in Kombination mit
anderen pharmakologischen Wirkstoffen, wie z.B. entzündlich wirkende
Präparate, z.B. Kortikosteroide (Steroide) (z.B. Beclomethason) oder
Leukotrienantagonisten (z.B. Montelukast), Sekretionshemmer, wie z.B.
Anticholinergika (z.B. Ipratropiumbromid), Antihistaminika, wie z.B.
10 Azelastin, Vasokonstriktoren, wie z.B. Xylometazolinhydrochlorid, antiviral
wirksame Medikamente, wie z.B. Oseltamivir oder Adamantan,
antibakteriell wirkende Präparate, wie Antibiotika (z.B. Penicillin) oder
pilzhemmend (fungizid oder fungistatisch) wirkende Präparate, verabreicht
werden.

15 Weiterhin soll die Erfindung durch das nachfolgende Beispiel erläutert
werden.

**Beispiel: Beeinflussung der Essigsäure-induzierten vaskulären
20 Permeabilität an Sprague-Dawley Ratten (Modell der nicht
allergischen Rhinitis)**

Männliche Sprague-Dawley Ratten im Gewicht von 280-320 g werden am
Versuchstag durch i.p. Injektion von 0,9-1 ml/Tier einer 2,5 %igen
25 Thiopental-Natriumlösung narkotisiert. Anschließend wird die Trachea
unterhalb der Epiglottis freipräpariert und an 2 Stellen eingeschnitten. In die
untere Öffnung der Trachea wird ein Polyethylenkatheter in Richtung Lunge
geschoben (orthograd) und mit Zwirn eingebunden, um die Atmung
aufrecht zu erhalten. Ein zweiter Polyethylenkatheter mit LUER-Lok
30 Anschlussstück (aus Original-Perfusor®-Leitung geschnitten) zur
retrograden Perfusion der Nasenhöhle wird in die obere Öffnung eingeführt
und retrograd bis zur inneren Öffnung der Choanen vorgeschoben so dass

die Lösung durch die Nasenhöhle fließen kann. Auf speziell angefertigten Plastiktischen werden insgesamt 8 Tiere einzeln so auf den Rücken gelegt, dass die Perfusionsflüssigkeit aus den Nasenlöchern tropfen und im Fraktionssammler aufgenommen werden kann. Dabei schaut die Hälfte des Kopfes mit der Nase über den Tischrand.

Bei jedem Tier wird an das LUER-Lok Anschlussstück des retrograd eingebundenen Katheters eine Polyethyleninfusionsleitung angeschlossen und über eine Rollpumpe in den Behälter mit der vorbereiteten Perfusionsflüssigkeit eingetaucht. Die Rollpumpe wird auf den konstanten Vortrieb von 0,5 ml Flüssigkeit/min eingestellt. Eine Rotlichtlampe zum Wärmen wird über den Tieren angeschaltet.

Eine initiale Perfusion der Nasenhöhle mit PBS über 30 min dient dazu den Nasenschleim wegzuspülen. Dabei wird der Fraktionssammler angeschaltet und das aus den Nasenlöchern tropfende Perfusat in 15 min Fraktionen gesammelt (2 Fraktionen). Die zweite Fraktion wird als Normalwert des Versuches verwendet.

Die Applikation der Testsubstanzen erfolgt topisch vor der Applikation von Essigsäure. Sie werden dem Perfusionsmedium (PBS, Dulbecco) in molaren Konzentrationen zugesetzt. 4,6 mg AWD 12-281 bzw. andere Testsubstanzen, wie AWD 12-322 oder AWD 12-298, werden entsprechend ihrem Molekulargewicht (4,6 mg AWD 12-322 oder 5,2 mg AWD 12-298) mit 1 ml 1 N NaOH verdünnt und anschließend mit H₂O bidest. auf 10 ml aufgefüllt. Als Referenz 1 werden 5,2 mg Beclomethason mit 2 ml 1 N NaOH und 4 ml 96 %igem Ethanol im Ultraschallbad 2 min behandelt und anschließend mit H₂O bidest. auf 10 ml aufgefüllt und bis zur Endkonzentration mit PBS versetzt. Als Referenz 2 werden 1,4 mg Ipratropiumbromid mit 1 ml 1 N NaOH verdünnt und anschließend mit H₂O bidest. auf 10 ml aufgefüllt und bis zur Endkonzentration mit PBS versetzt. Diese Lösungen werden mittels der Rollpumpe für 30 min durch die

Nasen perfundiert, die gewonnenen 2 Proben des Fraktionssammlers werden verworfen. Dann wird die Rollpumpe abgeschaltet.

Nach der Substanzperfusion wird der Plasmamarker Evans Blue (1 %ige Lösung in PBS) je 1 ml/Tier in die V. jugularis injiziert und anschließend
5 0,1 %ige Essigsäurelösung über Schläuche und Rollpumpen so lange in die Nasenhöhle gedrückt, bis 2-3 Tropfen Essigsäurelösung aus den Nasenmuscheln tropfen. Danach werden die Rollpumpen abgestellt. Die Essigsäurelösung bleibt 30 Minuten in der Nasenhöhle stehen, um eine
10 vollständige Durchdringung der Nasenschleimhaut zu gewährleisten.

Nach 30 Minuten Einwirkzeit werden die Rollpumpen und der Fraktionssammler wieder angestellt und die 0,1 %ige Essigsäurelösung in PBS 60 min lang retrograd (mit konstantem Vortrieb von 0,5 ml
15 Flüssigkeit/min) durch die Nasenhöhle perfundiert. Dabei wird kontinuierlich das aus den Nasenlöchern tropfende Perfusat in Glasröhrchen aufgenommen und in 4 Intervallen von 15 min gesammelt. Aliquots der Proben einschließlich der Normalwert-Proben werden auf Mikrotiterplatten aufgetragen und mit dem Photometer Digiscan bei einer Wellenlänge von
20 620 nm relativ zur Normalwertprobe (Blank) vermessen. Der Wirkungsverlauf der vaskulären Permeabilität der Nasenschleimhaut über 60 min wird als AUC (area under the curve, $AUC_{0-60 \text{ min}}$ in $\mu\text{g/l}$) berechnet (Grunwald, C., AUC 1.0, Berechnung und grafische Darstellung von "Area Under Curve" (AUC)-Werten, Interner Bericht der Arzneimittelwerke
25 Dresden GmbH, Aug. 1995). Der Evans Blue Gehalt im ausfließenden Perfusat in $\mu\text{g/ml}$ in 4 Sammelfractionen über je 15 Minuten wird nach der Formel 1 berechnet:

$$AUC_{0-60 \text{ min}} = \sum_{n=1}^4 \left\{ \Delta t \cdot \frac{y_{n-1} + y_n}{2} \right\}$$

t_n Zeitintervall (15 min)

y_n Evans Blue Gehalt pro Zeitintervall [$\mu\text{g/l}$ pro 15 min]

Um die Essigsäure-induzierte vaskuläre Permeabilität im Verlauf einer
5 Stunde zu berechnen, wird der Basalwert (2. Fraktion der initialen Perfusion
mit PBS Dulbecco) abgezogen:

$$\text{AUC}'_{0-60 \text{ min}} = \text{AUC}_{0-60 \text{ min}} - \text{Basalwert} \times 60 \text{ min}$$

10 Die Mittelwerte und Standardabweichungen ($\bar{x} \pm \text{SD}$) der AUC' einzelner
Tiere einer Kontrollgruppe oder einer mit Substanz vorbehandelten
Tiergruppe werden berechnet. Die Hemmung der vaskulären Permeabilität
wird in Prozent angegeben. Die Berechnung erfolgt, indem der mittlere
Farbstoffgehalt der Sammelfractionen von mit Vehikel behandelten
15 Kontrolltieren als 100 % gesetzt wird und im Vergleich dazu der mittlere
Farbstoffgehalt der Sammelfractionen von Tieren, die prophylaktisch mit
Substanz behandelt wurden ins Verhältnis gesetzt wird (x % Hemmung).
Jede Substanzkonzentration und jede entsprechende Vehikellösung wird an
4 bis 8 Tieren geprüft.

20

Statistische Analyse:

25

Zur Berechnung der statistischen Signifikanz wird der t-Test nach Student
bei ungepaarter Beobachtung verwendet. Werte von $p < 0,05$ und kleiner
werden als signifikant gewertet.

30

Tabelle 1: Wirkung von AWD 12-281 auf die Essigsäure-induzierte vaskuläre Permeabilität der Nasenschleimhaut der Ratte durch einmalige Perfusion über 30 Minuten (die Substanz wurde in der Perfusionsflüssigkeit gelöst), 60 min vor der Perfusion von 0,1 %iger Essigsäurelösung

Testsubstanz	Konzentration der Testsubstanz [$\mu\text{mol/l}$]	n	Evans Blue Gehalt ($\mu\text{g/ml}$) im Perfusat AUC' $\bar{x} \pm \text{SD}$	% Hemmung
Vehikel-Kontrolle	0	8	15,29 \pm 7,47	0
AWD 12-281	0,1	8	10,88 \pm 8,45	29
Vehikel-Kontrolle	0	8	15,30 \pm 8,56	0
AWD 12-281	1	8	5,96 \pm 7,97	61*
Vehikel-Kontrolle	0	8	15,29 \pm 7,47	0
AWD 12-281	3	8	6,41 \pm 5,81	58*
Vehikel-Kontrolle	0	8	15,29 \pm 7,47	0
AWD 12-281	10	8	3,68 \pm 4,40	76**

AUC' = "Area Under Curve" Wert unter Beachtung des Basalwertes

n = Anzahl der Tiere pro Gruppe

*, ** = p < 0,05, p < 0,01 statistische Signifikanz berechnet gegen die Vehikel-Kontrollgruppe mittels t-Test nach Student.

P2

Tabelle 2: Wirkung von AWD 12-322 auf die Essigsäure-induziert vaskuläre Permeabilität der Nasenschleimhaut der Ratte durch einmalige Perfusion über 30 Minuten (die Substanz wurde in der Perfusionsflüssigkeit gelöst), 60 min vor der Perfusion von 0,1 %iger Essigsäurelösung

Testsubstanz	Konzentration der Testsubstanz [$\mu\text{mol/l}$]	n	Evans Blue Gehalt ($\mu\text{g/ml}$) im Perfusat AUC' $\bar{x} \pm \text{SD}$	% Hemmung
Vehikel-Kontrolle	0	4	14,56 \pm 4,68	0
AWD 12-322	0,1	4	13,77 \pm 6,65	5
Vehikel-Kontrolle	0	4	14,56 \pm 4,68	0
AWD 12-322	1	4	7,25 \pm 6,77	50
Vehikel-Kontrolle	0	4	14,65 \pm 4,68	0
AWD 12-322	10	4	2,62 \pm 3,44	82**

AUC' = "Area Under Curve" Wert unter Beachtung des Basalwertes

n = Anzahl der Tiere pro Gruppe

** = p < 0,01 statistische Signifikanz berechnet gegen die Vehikel-Kontrollgruppe mittels t-Test nach Student.

Tabelle 3: Wirkung von AWD 12-298 auf die Essigsäure-induzierte vaskuläre Permeabilität der Nasenschleimhaut der Ratte durch einmalige Perfusion über 30 Minuten (die Substanz wurde in der Perfusionsflüssigkeit gelöst), 60 min vor der Perfusion von 0,1 %iger Essigsäurelösung

Testsubstanz	Konzentration der Testsubstanz [$\mu\text{mol/l}$]	n	Evans Blue Gehalt ($\mu\text{g/ml}$) im Perfusat AUC' $\bar{x} \pm \text{SD}$	% Hem- mung
Vehikel-Kontrolle	0	12	16,52 \pm 11,77	0
AWD 12-298	1	4	17,72 \pm 9,31	0
Vehikel-Kontrolle	0	12	16,52 \pm 11,77	0
AWD 12-298	3	6	8,43 \pm 5,56	49
Vehikel-Kontrolle	0	12	16,52 \pm 11,77	0
AWD 12-298	10	7	6,03 \pm 7,11	64 *

AUC' = "Area Under Curve" Wert unter Beachtung des Basalwertes

n = Anzahl der Tiere pro Gruppe

* = p < 0,05 statistische Signifikanz berechnet gegen die Vehikel-Kontrollgruppe mittels t-Test nach Student.

Tabelle 4: Wirkung von Beclomethason auf die Essigsäure-induzierte vaskulär Permeabilität der Nasenschleimhaut der Ratte durch einmalige Perfusion über 30 Minuten (die Substanz wurde in der Perfusionsflüssigkeit gelöst), 60 min vor der Perfusion von 0,1 %iger Essigsäurelösung

Testsubstanz	Konzentration der Testsubstanz [$\mu\text{mol/l}$]	n	Evans Blue Gehalt ($\mu\text{g/ml}$) im Perfusat AUC' $\bar{x} \pm \text{SD}$	% Hem- mung
Vehikel-Kontrolle	0	4	17,37 \pm 6,85	0
Beclomethason	0,01	4	10,70 \pm 2,38	38
Vehikel-Kontrolle	0	4	17,30 \pm 6,85	0
Beclomethason	0,1	4	4,93 \pm 3,19	72*
Vehikel-Kontrolle	0	4	17,37 \pm 6,85	0
Beclomethason	1	4	0,93 \pm 1,80	95**
Vehikel-Kontrolle	0	4	17,37 \pm 6,85	0
Beclomethason	3	4	5,51 \pm 7,12	68*
Vehikel-Kontrolle	0	4	25,04 \pm 5,06	0
Beclomethason	10	4	4,86 \pm 8,08	81**

AUC' = "Area Under Curve" Wert unter Beachtung des Basalwertes

n = Anzahl der Tiere pro Gruppe

*, ** = $p < 0,05$, $p < 0,01$ statistische Signifikanz berechnet gegen die Vehikel-Kontrollgruppe mittels t-Test nach Student.

Tabelle 5: Wirkung von Ipratropiumbromid auf die Essigsäure-induzierte vaskuläre Permeabilität der Nasenschleimhaut der Ratte durch einmalige Perfusion über 30 Minuten (die Substanz wurde in der Perfusionsflüssigkeit gelöst), 60 min vor der Perfusion von 0,1 %iger Essigsäurelösung

Testsubstanz	Konzentration der Testsubstanz [$\mu\text{mol/l}$]	n	Evans Blue Gehalt ($\mu\text{g/ml}$) im Perfusat AUC' x \pm SD	% Hem- mung
Vehikel-Kontrolle	0	4	14,56 \pm 4,68	0
Ipratropiumbromid	0,1	4	9,11 \pm 10,31	37
Vehikel-Kontrolle	0	4	14,56 \pm 4,68	0
Ipratropiumbromid	1	4	4,38 \pm 7,55	70*
Vehikel-Kontrolle	0	4	14,56 \pm 4,68	0
Ipratropiumbromid	10	4	3,23 \pm 5,70	78*

AUC' = "Area Under Curve" Wert unter Beachtung des Basalwertes

n = Anzahl der Tiere pro Gruppe

* = p < 0,05 statistische Signifikanz berechnet gegen die Vehikel-Kontrollgruppe mittels t-Test nach Student.

Ergebnisse und Diskussion:

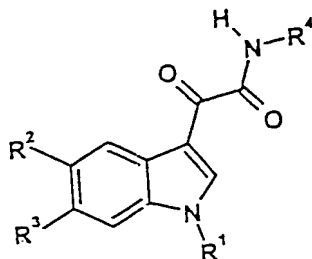
Die selektiven PDE4-Hemmer AWD 12-281 und 12-322 zeigen im Prüfbereich von 0,1 bis 10 $\mu\text{mol/l}$ eine konzentrationsabhängige Hemmung der vaskulären Permeabilität der Nasenschleimhaut am Modell Essigsäure-induzierte Rhinitis der Ratte. Das Derivat AWD 12-298 ist im

Konzentrationsbereich von 3 bis 10 $\mu\text{mol/l}$ konzentrationsabhängig wirksam. Im Vergleich dazu sind die Standardtherapeutika zur Behandlung einer nicht-allergischen Rhinitis, wie das Kortikosteroid Beclomethason und das Anticholinergikum Ipratropiumbromid, etwa gleich stark wirksam. Die

5 Hemmung einer durch Essigsäure induzierten Plasmaextravasation durch PDE4-Hemmstoffe ist eine völlig unerwartete und neuartige Erkenntnis, die bisher noch nicht beschrieben wurde.

Anspruch

1. Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel (I)



worin

R¹ für -C₁-C₆-Alkyl, geradkettig oder verzweigt, gesättigt oder teilweise ungesättigt, steht gegebenenfalls ein- oder mehrfach substituiert mit mono-, bi- oder tricyclischen gesättigten oder ein- oder mehrfach ungesättigten Carbocyclen mit 3-14 Ringgliedern oder mono-, bi- oder tricyclischen gesättigten oder ein- oder mehrfach ungesättigten Heterocyclen mit 5-15 Ringgliedern und 1-6 Heteroatomen, die vorzugsweise N, O und S sind,

wobei die carbocyclischen und heterocyclischen Substituenten ihrerseits gegebenenfalls ein- oder mehrfach mit -OH, -SH, -NH₂, -NHC₁-C₆-Alkyl, -N(C₁-C₆-Alkyl)₂, -NHC₆-C₁₄Aryl, -N(C₆-C₁₄Aryl)₂, -N(C₁-C₆Alkyl)(C₆-C₁₄Aryl), -NO₂, -CN, -F, -Cl, -Br, -I, -O-C₁-C₆-Alkyl, -O-C₆-C₁₄-Aryl, -C₁-C₆-Alkyl, -C₆-C₁₄-Aryl oder/und -COOH substituiert sein können,

wobei jeder C₁-C₆-Alkylrest an den carbocyclischen und heterocyclischen Substituenten seinerseits ein- oder mehrfach mit -F, -Cl, -Br, -I, -OH oder/und C₆-C₁₄-Aryl substituiert sein kann, und wobei jeder C₆-C₁₄-Arylrest an den carbocyclischen und heterocyclischen Substituenten seinerseits ein- oder mehrfach mit -F, -Cl, -Br, -I, -OH oder/und C₁-C₆-Alkyl substituiert sein kann,

R^2 , R^3 für Wasserstoff oder -OH steht, wobei mindestens einer von beiden Substituenten -OH sein muss;

R^4 für einen mono- oder polycyclischen aromatischen Carbocyclus mit 6-14 Ringgliedern oder einen mono- oder polycyclischen Herterocyclus mit 5-15 Ringgliedern steht, wobei die Heteroatome aus N, O und S ausgewählt sind,

gegebenenfalls ein- oder mehrfach substituiert mit -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -SH, -NH₂, -NH(C₁-C₆-Alkyl), -N(C₁-C₆-Alkyl)₂, -NH(C₆-C₁₄ Aryl), -N(C₆-C₁₄Aryl)₂, -N(C₁-C₆-Alkyl) (C₆-C₁₄-Aryl), -NO₂, -CN, -O-C₁-C₆-Alkyl, -O-C₆-C₁₄-Aryl, -C₁-C₆-Alkyl, -C₆-C₁₄-Aryl oder/und -COOH,

wobei jeder C₁-C₆-Alkylrest seinerseits ein- oder mehrfach mit -F, -Cl, -Br, -I, -OH oder/und -C₆-C₁₄-Aryl substituiert sein kann und jeder C₆-C₁₄-Arylrest seinerseits ein- oder mehrfach mit -F, -Cl, -Br, -I, -OH oder/und C₁-C₆-Alkyl substituiert sein kann, zur Behandlung von nicht allergischer Rhinitis.

2. Verwendung nach Anspruch 1,

dadurch gekennzeichnet,

dass die Verbindungen N-(3,5-Dichlorpyrid-4-yl)-[1-(4-fluorbenzyl)-5-hydroxy-indol-3-yl]-glyoxylsäureamid (AWD 12-281), N-(3,5-Dichlorpyrid-4-yl)-2-[5-hydroxy-1-(4-hydroxybenzyl)-1H-indol-3-yl]-glyoxylsäureamid (AWD 12-322) und N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-[1-(2,6-difluorbenzyl)-5-hydroxy-indol-3-yl]-glyoxylsäureamid-semiethylacetat (AWD 12-298) oder deren pharmakologisch verträgliche Salze sind.

3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2,
dadurch gekennzeichnet,

dass die nicht allergische Rhinitis ausgewählt wird aus
vasomotorischer Rhinitis, nicht allergischer Rhinitis mit
Eosinophilensyndrom, chronischer Sinusitis und medikamentöser
Rhinitis.

4. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2,
dadurch gekennzeichnet,

das die infektionsbedingte Rhinitis ein nicht-allergisch bedingtes
Symptom einer viralen oder bakteriellen Infektion oder einer Infektion
mit Pilzen oder Parasiten oder einer Kombination der genannten
Keime, ausgewählt aus vasomotorischer Rhinitis, nicht-allergischer
Rhinitis mit Eosinophilensyndrom, chronischer Sinusitis und
medikamentöser Rhinitis, ist.

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Hydroxyindolyl-glyoxyl-
5 säureamiden als Hemmstoffe der Phosphodiesterase 4 zur Behandlung von
nicht allergischer Rhinitis.

10 pu/ANM/28455P DE-06.09.2002

